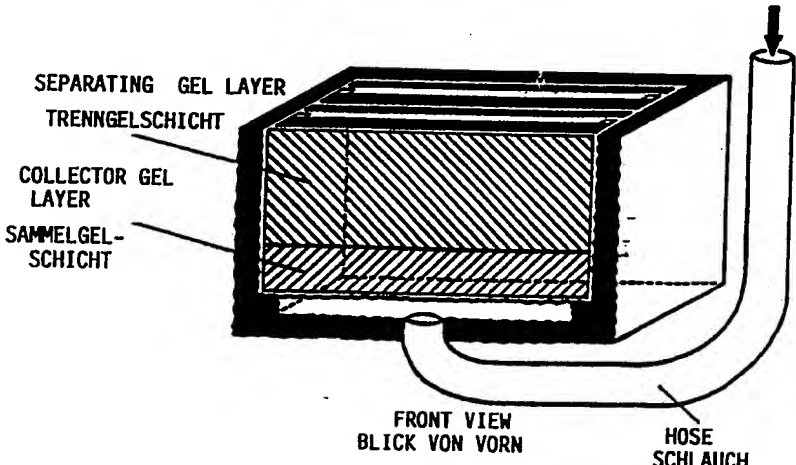




PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : G01N 27/26, C07K 3/14</p>	A1	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/04625</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 19. März 1992 (19.03.92)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE91/00660</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 20. August 1991 (20.08.91)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 40 27 333.4 29. August 1990 (29.08.90) DE</p> <p>(71)(72) Anmelder und Erfinder: MICHOV, Budin [BG/DE]; Kepserstraße 21A, D-8050 Freising (DE).</p> <p>(74) Anwalt: HARTMANN, Günter; Pienzenauerstraße 2, D-8000 München 80 (DE).</p> <p>(81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US.</p>		
<p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>		
<p>(54) Title: PROTEIN SEPARATION BY SDS ELECTROPHORESIS IN A HOMOGENOUS GEL USING A TRIS-FORMIATE-TAURINATE BUFFER SYSTEM AND SUITABLE HOMOGENOUS ELECTROPHORESIS PLATES THEREFOR</p> <p>(54) Bezeichnung: PROTEINTRENNUNG DURCH SDS-ELEKTROPHORESE IN EINEM HOMOGENEN GEL UNTER VERWENDUNG EINES TRIS-FORMIAT-TAURINAT-PUFFERSYSTEMS UND DAFÜR GEEIGNETE HOMOGENE ELEKTROPHORESEPLATTEN</p>		
 <p style="text-align: center;">SEPARATING GEL LAYER TRENNGELSCHICHT</p> <p style="text-align: center;">COLLECTOR GEL LAYER SAMMELGEL-SCHICHT</p> <p style="text-align: center;">FRONT VIEW BLICK VON VORN</p> <p style="text-align: center;">HOSE SCHLAUCH</p>		
<p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to a process and homogenous electrophoresis plate for protein separation by SDS electrophoresis using a novel tris-formiate-taurinate buffer system.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine homogene Elektrophoreseplatte zur Durchführung einer Proteintrennung durch SDS-Elektrophorese unter Verwendung eines neuartigen Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystems.</p>		

+ BESTIMMUNGEN DER "SU"

Die Bestimmung der "SU" hat Wirkung in der Russischen Föderation. Es ist noch nicht bekannt, ob solche Bestimmungen in anderen Staaten der ehemaligen Sowjetunion Wirkung haben.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MN	Mongolei
BB	Barbados	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BE	Belgien	GA	Gabon	MW	Malawi
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BG	Bulgarien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BJ	Benin	GR	Griechenland	PL	Polen
BR	Brasilien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU+	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TC	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

B e s c h r e i b u n g

PROTEINTRENNUNG DURCH SDS-ELEKTROPHORESE IN EINEM HOMOGENEN GEL UNTER VERWENDUNG EINES TRIS-FORMIAT-TAURINAT- PUFFERSYSTEMS UND DAFÜR GEEIGNETE HOMOGENE ELEKTROPHORESEPLATTEN

Die Erfindung betrifft die Proteintrennung durch SDS-Elektrophorese in einem homogenen Gel unter Verwendung eines neuen Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystems und die dafür geeigneten homogenen Elektrophoreseplatten

Die SDS-Elektrophorese, bei der das Detergens Natriumdodecylsulfat (SDS) verwendet wird, ist eine relativ einfach durchzuführende und außerordentlich informative Methode zur Trennung von Proteinen nach ihrer Molekularmasse.

Es sind bereits verschiedene SDS-Elektrophoreseverfahren bekannt. Von der Firma Pharmacia LKB werden beispielsweise SDS-Gradienten-Fertiggele und Elektrodenstreifen aus Polyacrylamid mit einem Tris-Acetat-Tricinat-Puffersystem (ExcelGele) für die Durchführung einer SDS-Elektrophorese

ERSATZBLATT

auf den Markt gebracht. Die von dieser Firma vertriebenen SDS-Fertiggele bestehen aus einem Sammelgel (mit einer Gesamtpolyacrylamidkonzentration von 5 g/dl und einem Vernetzungsgrad von 0,03) und einem Trenngel (mit einer Gesamtpolyacrylamidkonzentration, die sich über einen Bereich von 8 bis 18 g/dl kontinuierlich ändert, und einem Vernetzungsgrad von 0,03).

Diese Gradienten-8-18-Polyacrylamid-SDS-Fertiggele haben jedoch den Nachteil, daß ihre Herstellung große Sorgfalt und viel Zeit erfordert, so daß diese Produkte teuer sind, und daß sie außerdem unregelmäßig trocknen, was zur Folge hat, daß sich das Gel, zusammen mit dem Träger bzw. dem Stützgewebe, auf den (das) es aufgebracht wird, verformt. Außerdem hat das angebotene Tris-Acetat-Tricinat-Puffersystem, das die Excelgele enthalten, eine niedrige Pufferkapazität, weil sein funktioneller pH-Wert von 7,1 weit entfernt von den pK_s-Werten des Trisins (8,2), der Essigsäure (4,6) und des Tricins (8,0) ist.

Aufgabe der Erfindung war es daher, die SDS-Elektrophorese weiterzuentwickeln durch Verwendung homogener Gele, die einfacher und billiger herzustellen sind, und eines Puffersystems mit einer höheren Pufferkapazität.

Es wurde nun gefunden, daß diese Aufgabe erfindungsgemäß dadurch gelöst werden kann, daß die SDS-Elektrophorese durchgeführt wird unter Verwendung homogener Sammel- und Trenngele mit einem spezifischen Gehalt an Polyacrylamid innerhalb des Bereiches von 4 bis 24 g/dl und mit einem Vernetzungsgrad von 0,02 bis 0,05, vorzugsweise 0,04, in Kombination mit einem Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem, dessen funktioneller pH-Wert in dem Bereich von 8,0 bis 9,0, vorzugsweise bei 8,5, und damit wesentlich näher bei den pK_s-Werten des Trisins (8,2) und des Taurins (8,9) liegt, so daß es eine deutlich höhere Pufferkapazität aufweist.

Die hier beschriebene neue Methode zur Durchführung der SDS-Elektrophorese unter Verwendung homogener Fertiggele in einem neuartigen Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem, vermeidet die arbeitsintensive und kostspielige Gradientenkonzentration der bekannten SDS-Fertiggele und verbessert die Trennung von Proteinen. Da die erfindungsgemäß verwendeten homogenen Gele leicht und technisch einfach herstellbar sind, verbilligt sich dadurch ganz erheblich das SDS-Elektrophoreseverfahren.

Die Konzentration des Polyacrylamids (ein Polymer aus Acrylamid und Bisacrylamid) in den erfindungsgemäß verwendeten homogenen Sammel- und Trenngelen beträgt 4 bis 5, vorzugsweise 5, g/dl, bzw. 8 bis 24, vorzugsweise 12, g/dl, und sein Vernetzungsgrad liegt bei 0,02 bis 0,05, vorzugsweise bei 0,04.

Zur Erhöhung der niedrigen Kapazität des bekannten ExcelGel-Puffersystems wurde ein Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem entwickelt, bei dem das Formiat (das Ion der Ameisensäure) als Leition, das Taurinat (das Ion des Taurins) als Folgeion, und das Tris als Gegenion fungieren. Der funktionelle pH-Wert dieses Puffersystems liegt bei 8,0 bis 9,0, vorzugsweise bei 8,5, und damit nahe bei dem pK_s-Wert des Tris (8,2) und des Taurins (8,9).

Anstelle der Ameisensäure kann auch eine starke Säure (beispielsweise Salzsäure) verwendet werden. Anstelle des Taurins können auch Taurinderivate und andere strukturähnliche Verbindungen (beispielsweise Aminomethansulfonsäure, 3-Aminopropansäure, Alanin, β -Alanin, 2-Aminoethanphosphonsäure, 2-Aminoethylschwefelsäure, Cystein, Serin und Threonin) verwendet werden.

Ein Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Durchführung einer Proteintrennung durch SDS-Elektrophorese,

das dadurch gekennzeichnet ist, daß eine wäßrige Lösung des zu trennenden Proteingemisches auf eine homogene Gelschicht einer Elektrophoreseplatte, bestehend aus einer homogenen Sammelgelschicht und einer homogenen Trenngelschicht, die beide ein Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem enthalten, auf einem Träger bzw. Stützgewebe, aufgebracht und nach dem Auflegen von zwei Papierelektrodenstreifen durch Anlegen eines Gleichstromes in an sich bekannter Weise eine SDS-Elektrophorese durchgeführt wird.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist eine homogene Elektrophoreseplatte zur Durchführung einer Proteintrennung durch SDS-Elektrophorese unter Anwendung des vorstehend beschriebenen Verfahrens, die aus einem Träger bzw. einem Stützgewebe mit einer darauf aufgetragenen Sammelgelschicht und einer Trenngelschicht besteht, die beide ein Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem enthalten und jeweils einen aufgelegten Papierelektrodenstreifen tragen.

Vorzugsweise wird eine Elektrophoreseplatte verwendet, deren Sammelgelschicht Polyacrylamid mit einem Vernetzungsgrad $C = 0,04$ in einer homogenen Konzentration $T = 5 \text{ g/dl}$ sowie 30 g/dl Glycerin in einem Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem enthält. Ihre Trenngelschicht enthält vorzugsweise Polyacrylamid mit einem Vernetzungsgrad $C = 0,04$ in einer homogenen Konzentration $T = 12 \text{ g/dl}$ sowie 10 g/dl Glycerin in einem Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem.

Als Träger bzw. Stützgewebe wird vorzugsweise eine etwa $0,2 \text{ mm}$ dicke Folie aus Polyester bzw. ein Netz aus Polyester- oder Glasfasern verwendet, in der (dem) die der Gelschicht zugewandte Oberfläche hydrophil ist.

Das Puffersystem der Sammelgelschicht und der Trenngelschicht besteht jeweils aus $0,1$ bis $0,6 \text{ mol/l}$ ($1,21$ bis $7,27 \text{ g/dl}$), vorzugsweise $0,389 \text{ mol/l}$ ($4,71 \text{ g/dl}$), Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan (TRIS), $0,1$ bis $0,4 \text{ mol/l}$ ($0,38$

bis 1,52 ml/dl), vorzugsweise 0,3 mol/l (1,14 ml/dl), Ameisensäure und 0,001 bis 0,004 mol/l (0,03 bis 0,12 g/dl), vorzugsweise 0,002 mol/l (0,06 g/dl), Natriumdodecylsulfat (SDS) und hat jeweils einen pH-Wert von 7,0 bis 8,5, vorzugsweise von 7,8.

Die Papierelektrodenstreifen enthalten ein Puffersystem aus 0,2 bis 1,2 mol/l (2,42 bis 12,11 g/dl), vorzugsweise 0,589 mol/l (7,13 g/dl), TRIS, 0,2 bis 1,6 mol/l (2,50 bis 15,02 g/dl), vorzugsweise 0,802 mol/l (10,04 g/dl), Taurin (2-Amino-ethansulfonsäure) und 0,002 bis 0,01 mol/l (0,06 bis 0,29 g/dl), vorzugsweise 0,007 mol/l (0,20 g/dl), SDS mit einem pH-Wert von 8,0 bis 9,0, vorzugsweise von 8,5 (Kathodenpuffer), bzw. aus 0,4 bis 1,6 mol/l (4,85 bis 19,38 g/dl), vorzugsweise 1,295 mol/l (15,69 g/dl), TRIS, 0,25 bis 1,50 mol/l (0,95 bis 5,72 ml/dl), vorzugsweise 1,0 mol/l (3,81 ml/dl), Ameisensäure und 0,002 bis 0,01 mol/l (0,06 bis 0,29 g/dl), vorzugsweise 0,007 mol/l (0,20 g/dl), SDS mit einem pH-Wert von 7,0 bis 8,5, vorzugsweise von 7,8 (Anodenpuffer).

Die SDS-Elektrophorese kann erfindungsgemäß als horizontale oder vertikale oder auch als zweidimensionale Elektrophorese durchgeführt werden. Sie kann analytisch oder als Blotting-Elektrophorese eingesetzt werden, wobei nach der Durchführung der SDS-Elektrophorese die voneinander getrennten Proteine auf an sich bekannte Weise fixiert und mittels einer Färbelösung angefärbt werden. Die SDS-Elektrophorese wird bei einer Spannung von 50 bis 600 V innerhalb 0,5 bis 2 Stunden durchgeführt.

Nach dem erfindungsgemäßen Verfahren lassen sich beispielsweise Leber-, Muskel-, Marker-, Milz-, Erdnuß-, Globulin-, Schlangengift-, Escherichia-coli-, Weizen-, Reis-, Zwiebel-, Bohnen-, Linsen-, Erbsen-, Sonnenblumen-, Haselnußproteine in einer Konzentration von vorzugsweise

0,250 bis 0,125 mg/ml zuverlässig voneinander trennen. Die Proteine werden in mit SDS d naturierter Form eingesetzt.

Die Fixierung der voneinander getrennten Proteine nach Durchführung der SDS-Elektrophorese erfolgt 2 bis 3 mal je 10 bis 15 min mit 0,5 g/dl Glutardialdehyd in 50 ml/dl Ethanol bei 60 °C oder Raumtemperatur.

Die Anfärbung zur Sichtbarmachung der Proteine erfolgt in an sich bekannter Weise unter Verwendung einer Färbelösung, vorzugsweise einer Lösung von Coomassie Brilliantblau R 250 oder einer Silberfärbungslösung.

Das Aufbringen der Proben mit den voneinander zu trennenden Proteinen erfolgt auf das Sammelgel mit der Hilfe eines Applikatorstreifens, wobei Probenvolumina von 1 bis 20 µl aufgegeben werden können. Auf einem Gel können bis zu 50 Proben auf einmal getrennt werden.

Die erfindungsgemäße SDS-Elektrophorese erlaubt eine schnelle und wirksame Trennung von Proteinen im Molekularmassenbereich von 6 000 bis 450 000. Die dabei erzielten Banden sind schärfer als bei den bekannten SDS-Elektrophorese-Systemen und es wird eine deutlich höhere Auflösung (Ausbildung von mehr Trennzonen) von Proteingemischen erzielt.

Die erfindungsgemäßen homogenen Elektrophoreseplatten lassen sich auf technisch einfache Weise, beispielsweise wie folgt, herstellen (vgl. Abb. 1 und 2 der beiliegenden Zeichnung):

In einem durchsichtigen Plexiglaskasten (Abb. 1) werden vertikal und nacheinander Glasplatten mit vertikal aufgeklebten 0,25 bis 1,0 mm, vorzugsweise 0,5 mm dicken Abstandstreifen, und Gel-Fix-Folien oder Gel-Fix-Netzen (an der nächsten Glasplatte locker fixiert) angeordnet, bis der Kasten ganz voll ist. Mit einem Schlauch (Abb. 2) wird

zuerst eine Pufferlösung (Wasser) eingegossen und dann wird, unter die Pufferlösung eine Sammelgellösung eingeführt. Nach der Polymerisation des Sammelgels, die auf übliche Weise unter Verwendung von bekannten Katalysatoren wie Tetramethylethyldiamin (TMEDA, TEMED) und Ammoniumperoxydisulfat $[(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8]$ innerhalb 15 min durchgeführt wird, erhält man ein Sammelgel mit einer ganz glatten oberen Grenze. Die überstehende Pufferlösung (Wasser) wird abgesaugt, z. B. mit einer Wasserstrahlpumpe und dann wird eine Trenngellösung zur Herstellung des Trenngels von oben her eingegossen. Nach der Durchführung der Polymerisation des Trenngels auf die vorstehend beschriebene Weise werden die Gelschichten zusammen mit den Gel-Fix-Folien bzw. mit den Gel-Fix-Netzen, herausgelöst und jede Gelschicht kann unter Verwendung eines Schweißgerätes in Kunststoffolie eingeschweißt werden. Die dabei erhaltenen homogenen Gele sind bei Aufbewahrung bei Raumtemperatur mindestens 12 Monate haltbar.

Die Papierelektrodenstreifen haben jeweils die gleiche Stärke von 6 mm, aber verschiedene Längen und Breiten, z.B. 260 mm x 12,5 mm. Die Kathodenpapierelektrodenstreifen enthalten Kathodenpuffer und die Anodenpapierelektrodenstreifen enthalten Anodenpuffer (s.o.). Bei Aufbewahrung bei Raumtemperatur sind die Papierelektrodenstreifen mindestens 12 Monate haltbar.

Die Erfindung wird in den folgenden Beispielen erläutert, in denen Rezepte für homogene SDS-Fertiggele mit verschiedener Konzentration des Trenngels (T, g/dl) angegeben sind.

In den Beispielen 1 bis 7 haben die Gelschichten unterschiedliche Maße, die Matrix besteht aus Polyacrylamid, die Sammelgelschicht (T = 5 g/dl, C = 0,04) macht 1/4 bis 1/3 der gesamten Gelschicht aus, die Trenngelschicht (T = 8, 10, 12, 14, 16, 18 oder 20 g/dl, C = 0,04) macht 3/4 bis 2/3 der gesamten Gelschicht aus. Das Trägergewebe der SDS-

Fertiggele ist eine Polyesterfolie (0,2 mm) oder ein Polyesternetz (80 µm). Die Gelschichten können bei Raumtemperatur gelagert werden und ihre Haltbarkeit beträgt mindestens 12 Monate. Im übrigen haben die Puffer in der Sammelgelschicht und in der Trenngelschicht jeweils die nachstehend tabellarisch angegebene Zusammensetzung (Tab. I):

Tab. I. Zusammensetzung der Gelschichtpuffer

T, g/dl	8	10	12	14	16	18	20
TRIS, g	6,39	5,70	5,15	4,71	4,36	4,08	3,88
Ameisensäure, ml	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14	1,14
SDS, g	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Dest. H ₂ O ad 100 ml							
pH	8,19	8,07	7,93	7,78	7,61	7,40	7,14

Die Kathoden- und Anodenpuffer der Papierelektrodenstreifen haben jeweils die in den folgenden Tabellen II und III angegebene Zusammensetzungen:

Tab. II. Zusammensetzung der Kathodenpuffer

T, g/dl	8	10	12	14	16	18	20
TRIS, g	15,04	11,96	9,35	7,13	5,26	3,69	2,40
Taurin, g	10,04	10,04	10,04	10,04	10,04	10,04	10,04
SDS, g	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Dest. H ₂ O ad 100 ml							
pH	8,70	8,63	8,55	8,47	8,38	8,27	8,13

Tab. III. Zusammensetzung der Anodenpuffer

T, g/dl	8	10	12	14	16	18	20
TRIS, g	21,29	19,01	17,17	15,69	14,51	13,61	12,94
Ameisensäure, ml	3,81	3,81	3,81	3,81	3,81	3,81	3,81
SDS, g	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Dest. H ₂ O ad 100 ml							
pH	8,19	8,07	7,93	7,78	7,61	7,40	7,14

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Verfahren zur Durchführung einer Proteintrennung durch SDS-Elektrophorese, dadurch gekennzeichnet, daß eine wäßrige Lösung des zu trennenden Proteingemisches auf eine homogene Gelschicht einer Elektrophoreseplatte, bestehend aus einer homogenen Trenngelschicht und einer homogenen Sammelgelschicht, die beide ein Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem enthalten, auf einem Träger bzw. Stützgewebe, aufgebracht und nach dem Auflegen von zwei Papierelektrodenstreifen durch Anlegen eines Gleichstromes in an sich bekannter Weise eine SDS-Elektrophorese durchgeführt wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine Elektrophoreseplatte verwendet wird, deren Sammelgelschicht Polyacrylamid mit einem Vernetzungsgrad von 0,02 bis 0,05, vorzugsweise 0,04, in einer homogenen Konzentration von 4 bis 5, vorzugsweise 5, g/dl, sowie 30 g/dl Glycerin in dem Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem enthält.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß eine Elektrophoreseplatte verwendet wird, deren Trenngelschicht Polyacrylamid mit einem Vernetzungsgrad $C = 0,02$ bis $0,05$, vorzugsweise $0,04$ in einer homogenen Konzentration $T = 8$ bis 24 , vorzugsweise 12 , g/dl, sowie 10 g/dl Glycerin in dem Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem enthält.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß eine Elektrophoreseplatte mit einer etwa $0,2$ mm dicken Trägerfolie aus Polyester oder einem Trägernetz aus Polyester- oder Glasfasern verwendet wird,

deren (dessen) der Gelschicht zugewandte Oberfläche hydrophil ist.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Puffersystem der Sammelgelschicht und der Trenngelschicht jeweils besteht aus 0,1 bis 0,6 mol/l (1,21 bis 7,27 g/dl), vorzugsweise 0,389 mol/l (4,71 g/dl), Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS), 0,1 bis 0,4 mol/l (0,38 bis 1,52 ml/dl), vorzugsweise 0,3 mol/l (1,14 ml/dl), Ameisensäure und 0,001 bis 0,004 mol/l (0,03 bis 0,12 g/dl), vorzugsweise 0,002 mol/l (0,06 g/dl), Natriumdodecylsulfat (SDS) und jeweils einen pH-Wert von 7,0 bis 8,5, vorzugsweise von 7,8, hat.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Papierelektrodenstreifen ein Puffersystem aus 0,2 bis 1,2 mol/l (2,42 bis 12,11 g/dl), vorzugsweise 0,589 mol/l (7,13 g/dl), TRIS, 0,2 bis 1,6 mol/l (2,50 bis 15,02 g/dl), vorzugsweise 0,802 mol/l (10,04 g/dl), Taurin und 0,002 bis 0,01 mol/l (0,06 bis 0,29 g/dl), vorzugsweise 0,007 mol/l (0,20 g/dl), SDS mit einem pH-Wert von 8,0 bis 9,0, vorzugsweise von 8,5 (Kathodenpuffer), bzw. aus 0,4 bis 1,6 mol/l (4,85 bis 19,38 g/dl), vorzugsweise 1,295 mol/l (15,69 g/dl), TRIS, 0,25 bis 1,50 mol/l (0,95 bis 5,72 ml/dl), vorzugsweise 1,0 mol/l (3,81 ml/dl), Ameisensäure und 0,002 bis 0,01 mol/l (0,06 bis 0,29 g/dl), vorzugsweise 0,007 mol/l (0,20 g/dl), SDS mit einem pH-Wert von 7,0 bis 8,5, vorzugsweise von 7,8 (Anodenpuffer) enthalten.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die SDS-Elektrophorese als horizontale oder vertikale Elektrophorese, oder als zweidimensionale Elektrophorese durchgeführt wird.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die SDS-Elektrophorese bei einer

Spannung von 50 bis 600 V innerhalb 0,5 bis 2 Stunden durchgeführt wird.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die SDS-Elektrophorese als analytische oder Blotting-Elektrophorese durchgeführt wird.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß nach Durchführung der SDS-Elektrophorese die voneinander getrennten Proteine 2 bis 3 mal je 10 bis 15 min mit 0,5 g/dl Glutardialdehyd in 50 ml/dl Ethanol bei 60 °C oder Raumtemperatur fixiert und dann mittels einer Färbelösung angefärbt werden.

11. Homogene Elektrophoreseplatte zur Durchführung einer Proteintrennung durch SDS-Elektrophorese, insbesondere nach dem Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß sie aus einem Träger, bzw. Stützgewebe und einer darauf aufgebrachtten Sammelgelschicht und einer Trenngelschicht besteht, die beide ein neuartiges Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem enthalten und jeweils einen aufgelegten Papierelektrodenstreifen tragen.

12. Elektrophoreseplatte nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Sammelgelschicht Polyacrylamid mit einem Vernetzungsgrad $C = 0,02$ bis $0,05$, vorzugsweise $0,04$, in einer homogenen Konzentration $T = 4$ bis 5 , vorzugsweise 5 , g/dl, sowie 30 g/dl Glycerin in dem Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem enthält.

13. Elektrophoreseplatte nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Trenngelschicht Polyacrylamid mit einem Vernetzungsgrad $C = 0,02$ bis $0,05$, vorzugsweise $0,04$, g/dl in einer homogenen Konzentration $T = 8$ bis 20 , vorzugsweise 12 , g/dl, sowie 10 g/dl Glycerin in dem Tris-Formiat-Taurinat-Puffersystem enthält.

14. Elektrophoreseplatte nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß das Puffersystem der Sammelgelschicht und der Trenngelschicht jeweils besteht aus 0,1 bis 0,6 mol/l (1,21 bis 7,27 g/dl), vorzugsweise 0,389 mol/l (4,71 g/dl) TRIS, 0,1 bis 0,4 mol/l (0,38 bis 1,52 ml/dl), vorzugsweise 0,3 mol/l (1,14 ml/dl) Ameisensäure und 0,001 bis 0,004 mol/l (0,03 bis 0,12 g/dl), vorzugsweise 0,002 mol/l (0,06 g/dl) SDS und jeweils einen pH-Wert von 7,0 bis 8,5, vorzugsweise von 7,8 hat.
15. Elektrophoreseplatte nach einem der Ansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Papierelektrodenstreifen jeweils ein Puffersystem aus 0,2 bis 1,2 mol/l (2,42 bis 12,11 g/dl), vorzugsweise 0,589 mol/l (7,13 g/dl) TRIS, 0,2 bis 1,6 mol/l (2,50 bis 15,02 g/dl), vorzugsweise 0,802 mol/l (10,04 g/dl) Taurin und 0,002 bis 0,01 mol/l (0,06 bis 0,29 g/dl), vorzugsweise 0,007 mol/l (0,20 g/dl) SDS mit einem pH-Wert von 8,0 bis 9,0, vorzugsweise 8,5 (Kathodenpuffer), bzw. aus 0,4 bis 1,6 mol/l (4,85 bis 19,38 g/dl), vorzugsweise 1,295 mol/l (15,69 g/dl) TRIS, 0,25 bis 1,50 mol/l (0,95 bis 5,72 ml/dl), vorzugsweise 1,0 mol/l (3,81 ml/dl) Ameisensäure und 0,002 bis 0,01 mol/l (0,06 bis 0,29 g/dl), vorzugsweise 0,007 mol/l (0,20 g/dl) SDS mit einem pH-Wert von 7,0 bis 8,5, vorzugsweise 7,8 (Anodenpuffer) enthalten.
16. Verwendung der homogenen Elektrophoreseplatte nach einem der Ansprüche 11 bis 15 zur Durchführung einer Proteintrennung durch SDS-Elektrophorese.
-

1 / 1

Abb. 1

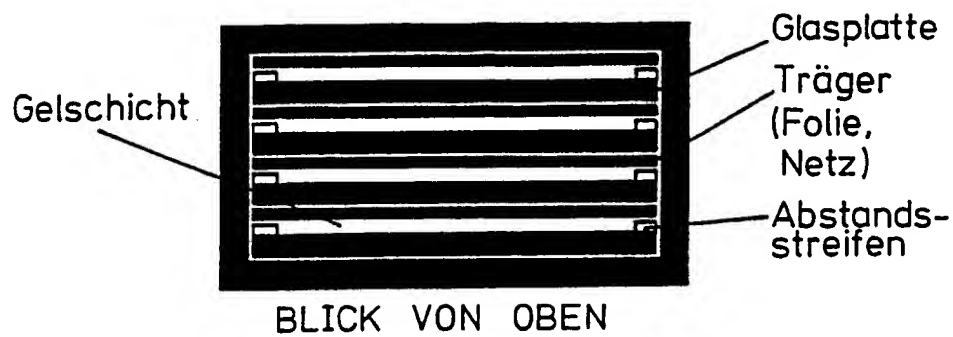
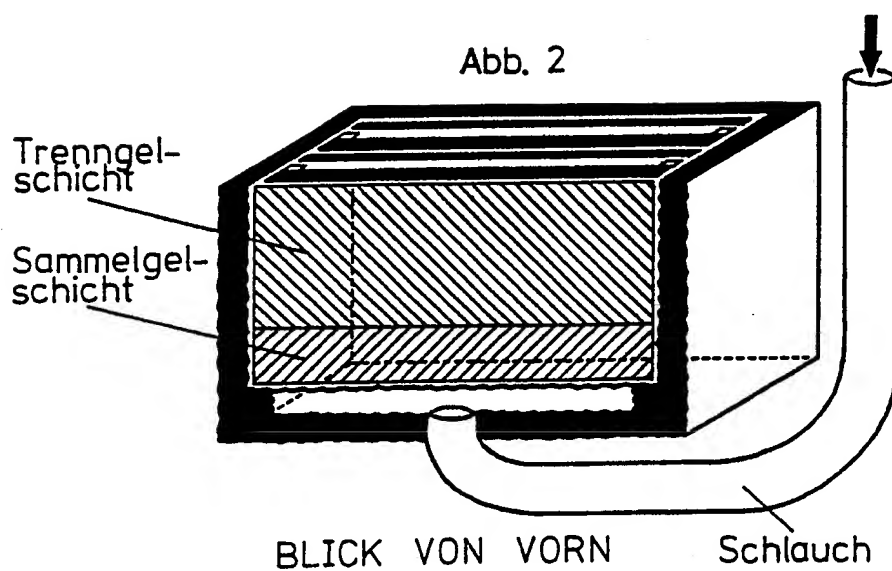


Abb. 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/DE 91/00660

I. CLASSIFICATION F SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) *		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int. Cl. ⁵ G 01 N 27/26, C 07 K 3/14		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
Int. Cl. ⁵ G 01 N; C 07 K; B 01 D		
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the extent that such Documents are included in the Fields Searched *		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT *		
Category *	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
A	US, A, 4481094 (A. FERNANDEZ DE CASTRO ET AL.) 6 November 1984, see the whole document	1-16
--		
A	US, A, 4415655 (AURORA F. DE CASTRO ET AL.) 15 November 1983, see the whole document	1-16

<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>* Special categories of cited documents: ¹⁰</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search		Date of Mailing of this International Search Report
13 November 1991 (13.11.91)		4 December 1991 (04.12.91)
International Searching Authority		Signature of Authorized Officer
European Patent Office		

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO. PCT/DE 91/00660

SA 50322

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 27/09/91
The European Patent office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A- 4481094	06/11/84	NONE	
US-A- 4415655	15/11/83	NONE	

For more details about this annex : see Official Journal of the European patent Office, No. 12/82

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.PCT/DE 91/00660**

SA 50322

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 27/09/91
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A- 4481094	06/11/84	KEINE	
US-A- 4415655	15/11/83	KEINE	

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82